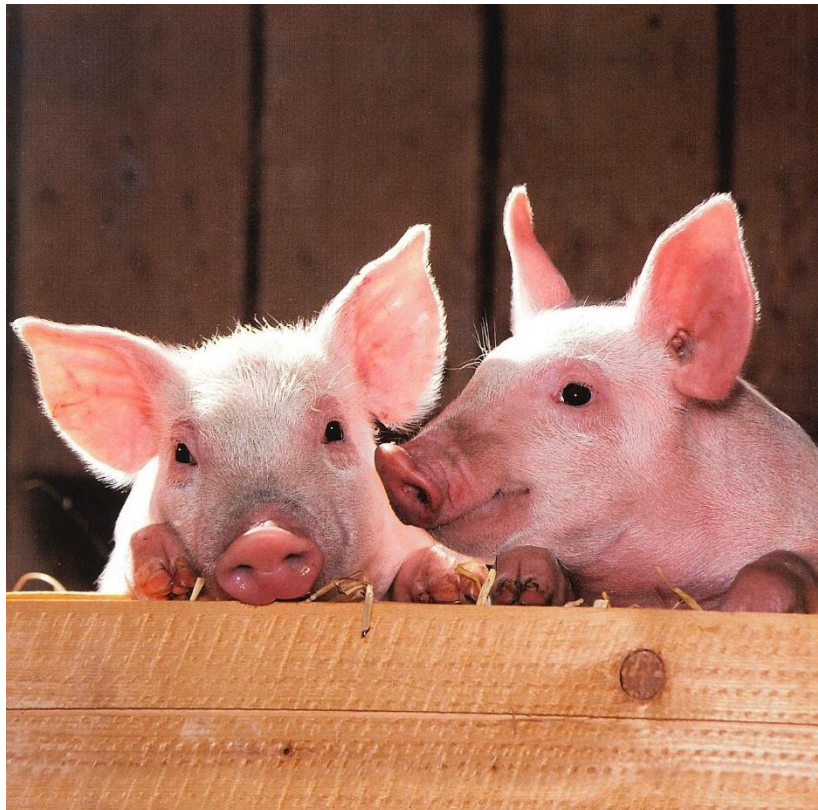


Probiotikans effekt på avvänjningsdiarré hos smågrisar

– Kan utfodring med probiotika öka tillväxten?

*The effect of probiotics on postweaning diarrhea in piglets –
Does probiotics increase growth?*

Johanna Lilja



Självständigt arbete • 15 hp

Agronomprogrammet - husdjur

Uppsala 2019

Probiotikans effekt på avvänjningsdiarré hos smågrisar – Kan utfodring med probiotika öka tillväxten

The effect of probiotics on postweaning diarrhea in piglets – Does probiotics increase growth?

Johanna Lilja

Handledare:	Erik Pelve, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi
Examinator:	Johan Dicksved, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Omfattning:	15 hp
Nivå och fördjupning:	Grundnivå, G2E
Kurstitel:	Självständigt arbete i husdjursvetenskap
Kursansvarig inst.:	Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Kurskod:	EX0865
Program/utbildning:	Agronomprogrammet - husdjur
Utgivningsort:	Uppsala
Utgivningsår:	2019
Omslagsbild:	Skeeze https://pixabay.com/sv/photos/svin-penna-portr%C3%A4tt-boskap-barn-1507208/
Elektronisk publicering:	https://stud.epsilon.slu.se
Nyckelord:	Digestionskanal, mikroorganismer, mikrobiota, zink, tillväxt, hälsoeffekter

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Abstract

During weaning, piglets are subjected to several stressful events which frequently result in post weaning diarrhea. The weaning could cause negative effects on the mucosa and the microbiota in the digestive tract and thus promote pathogens which increase the risk of post weaning diarrhea. The diarrhea has in recent decades been treated preventively with antibiotics or various metals, such as zinc. Since the use of antibiotics for growth-promoting purposes was banned in the EU in 2006 and that zinc is to be banned in feed from 2022, substitutes need to be found. Probiotics is an option that this study will address. Probiotics are living microorganisms that, when ingested in the right amount, benefit the health in animals. This essay study the effects of probiotics on health and growth of piglets post weaning. Studies have shown that probiotics have positive effects on the mucosa, lead to increased feed intake and increased growth in piglets after weaning. However, there are also studies that do not show any effect in these health parameters. This study concludes that probiotics tend to have positive effects on the health and growth of weaned piglets. Further studies are needed to identify which probiotic are the most effective and in which amount it should be administrated to achieve the desirable effect.

Sammanfattning

Vid avvänjning utsätts smågrisar för flera stressfyllda moment som ofta resulterar i avvänjningsdiarré. Avvänjningen kan medföra negativa effekter på mukosan och mikrobiotan i digestionskanalen och därmed främja patogener som i sin tur ökar risken för avvänjningsdiarré. Diarrén har under de senaste decennierna behandlats förebyggande med antibiotika eller olika metaller, till exempel zink. I och med att användningen av antibiotika i tillväxtfrämjande syfte förbjöds inom EU år 2006 och att zink ska förbjudas i foder från och med år 2022 behöver substitut identifieras. Probiotika är ett alternativ som den här studien kommer att diskutera. Probiotika är levande organismer som, tillsatt i rätt mängd, medför positiva hälsoeffekter för djuret. I den aktuella studien studeras probiotikas effekt på hälsa och tillväxt hos smågrisar efter avvänjning. Probiotika kan ha positiva effekter på mukosan och medföra ökat foderintag och tillväxt hos smågrisar efter avvänjning. Det finns även studier som inte sett någon effekt på dessa hälsoparametrar. Slutsatsen i den här litteraturstudien är att probiotika tenderar att ha positiva effekter på hälsan och tillväxten hos avvanda smågrisar. Mer forskning behövs för att identifiera vilken sorts probiotika, i vilken mängd och vid vilken tidpunkt som är mest effektiv under olika förhållanden.

Introduktion

Processen kring avvänjning i smågrisuppfoeding är stressande för smågrisarna eftersom de genomgår flera förändringar på kort tid. I grisarnas naturliga miljö sker avvänjningen successivt och smågrisarna slutar dia helt när de är cirka fyra månader gamla, medan avvänjningen i dagens produktionssystem sker vid tre till fem veckors ålder (Jensen, 2009). Avvänjningen innebär att suggan separeras från smågrisarna, di byts ut mot foder, vanligtvis innehållande spannmål, och en del smågrisar flyttas till ny miljö. Den stora stress som detta innebär resulterar ofta i diarré (Lallès *et al.*, 2007), reducerat foderintag och minskad tillväxt (Lallès *et al.*, 2004).

Avvänningsdiarré är ett stort välfärdproblem inom smågrisproduktionen som medför betydande ekonomiska förluster (Le Bon *et al.*, 2010) och har under de senaste årtiondena kontrollerats med hjälp av utfodring av antibiotika och olika metaller som till exempel zink (Lallès *et al.*, 2004). Antibiotikan har undertryckande effekter på patogener samt främjar ökat näringsupptag vilket i sin tur leder till ökat foderintag och tillväxt (Gaggia *et al.*, 2010). Zink tillsatt i rätt mängd reducerar diarré och ökar foderintag och tillväxt, bland annat genom förbättring av barriärfunktionen i tarmkanalen (Song *et al.*, 2015).

Antibiotikaresistensen i världen ökar och inom EU har antibiotika i tillväxtfrämjande syfte varit förbjudet sedan 2006 medan Sverige förbjöd det redan 1986 (Jordbruksverket, 2018). Medicinsk zink i foder kommer förbjudas inom EU från och med år 2022 på grund av dess miljöpåverkan (Branschinfo kött, 2019). Det är därför en aktuell fråga att finna substitut till antibiotika och metaller som kan reducera avvänningsdiarré inom smågrisuppfoedingen. Probiotika har lyfts fram som ett alternativ till antibiotika och zink (Gaggia *et al.*, 2010) och kommer att diskuteras i följande litteraturstudie.

Friska djur har bättre välfärd och växer bättre än sjuka djur. Därför är syftet med arbetet att undersöka om tillväxten hos smågrisar ökar om de utfodras med tillskott av probiotika vid avvänjning. Har tillskott av probiotika efter avvänjning någon effekt på tillväxten hos smågrisar? Vilka hälsoeffekter ses hos smågrisar som utfodras med probiotika efter avvänjning? Dessa två frågeställningar kommer behandlas i studien med hypotesen att tillväxten ökar om smågrisar utfodras med probiotika efter avvänjning.

Litteraturstudie

Digestionskanalen och mikrobiotan

Mukosan i digestionskanalen absorberar näringsämnen och är även en del av kroppens medfödda immunförsvar (Sjaastad *et al.*, 2016). Mukosan i tunntarmen har både veck och utvidgningar (villi) för att öka ytan och består av tre lager: epitellagret, bindväv och glatt muskulatur. Epitelcellerna som utgör epitellagret har olika funktioner, till exempel att stoppa bakterier och toxiner från att tas upp i blodet (Sjaastad *et al.*, 2016) samt producera mukusslem med antibakteriella effekter som även skyddar epitellagret från skador och mikroorganismer (Celi *et al.*, 2017). Epitelcellerna lever i cirka två till tre dagar och har olika uppgifter. De som täcker villi ingår i absorptionen (enterocyter) medan de som finns på körtlar och i Lieberkühnska kryptorna producerar vätskor som ingår i matsmältningsprocessen (Sjaastad *et al.*, 2016). Vidare har varje epitelcell apikalt cirka 1000 hårliknande utskott (mikrovilli) som ökar absorptionsytan markant. På mikrovilli finns enzymer som medverkar i nedbrytningen av kolhydrater och proteiner.

Långa villi är önskvärt för optimal tarmfunktion (Heo *et al.*, 2013) och det finns studier som visat att längden på villi och djupet på kryptorna indikerar mognaden i tarmen och antalet enterocyter (Hampson, 1986). Ju längre villi och djupare kryptor, desto fler enterocyter (Bon-tempo *et al.*, 2006) och därmed effektivare absorptionsförmåga. Magens pH-värde är lägre än tunntarmens eftersom enzymerna som verkar i olika delar av digestionskanalen har olika behov (Sjaastad *et al.*, 2016). Det låga pH-värdet fungerar även som ett försvar mot patogena bakterier (Heo *et al.*, 2013).

När smågrisarna föds är de fria från bakterier i tarmkanalen. Mikrobiotan utvecklas över tid då smågrisarna diar råmjölk och omges av olika miljöer (Fuller, 1989; Heo *et al.*, 2013). Mikrobiotan innefattar strukturella, skyddande och metaboliska mekanismer som kan ha hämmande effekter på patogener, utvecklar immunförsvaret och epitelceller (Celi *et al.*, 2017). Det är viktigt att mikrobiotan är i balans för att bibehålla en effektiv absorption av näringsämnen och även ett effektivt immunförsvar (Fuller, 1989; Gaggia *et al.*, 2010; Celi *et al.*, 2017). Mikrobiotans diversitet och aktivitet påverkas av flertalet faktorer inklusive grisens ålder, miljön grisen lever i, foder och utfodringsmetod, sjukdom, säsong, stress och genetik (Pluske *et al.*, 2018). Mikrobiotan hos enkelmagade djur domineras av släktena *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* och *Propionibacterium* (Gaggia *et al.*, 2010). Diversiteten förändras med dieten och sammansättningen av bakterier i mikrobiotan speglar kostens huvudsakliga innehåll, exempelvis mjölk eller vegetabilier (Frese *et al.*, 2015). Mikrobiotan i tarmarna består av stora mängder och olika arter av mikroorganismer som även varierar med de olika tarmarna. Många av mikroorganismerna är ännu inte kända eller namngivna, vilket innebär att det idag inte är möjligt att säga vad en optimal mikrobiota är (Celi *et al.*, 2017).

Fysiologiska effekter på digestionskanalen vid avvänjning

Vid avvänjning utsätts smågrisen, som tidigare nämnts, för flera stressfaktorer som leder till obalans i mikrobiotan (Fuller, 1989) och kan öka mottagligheten för patogener (Isaacson & Kim, 2012). Vid avvänjning sjunker ofta foderintaget (Lallès *et al.*, 2004) vilket bidrar till att längden på villi minskar och storleken på de Lieberkühnska kryptorna ökar (Hampson, 1986; Pluske *et al.*, 1996, 1997; Boudry *et al.*, 2004). Reduktionen av längden på villi beror på minskat antal epitelceller (Hampson, 1986) vilket i sin tur medför sänkt förmåga att absorbera näringsämnen samt ett försämrat immunförsvar. Förändringen i epitelet ökar chansen för patogener, som enterotoxiska *Escherichia coli* (ETEC) att etablera sig i tarmkanalen (Heo *et al.*, 2013). Fimbrier på ETEC-bakterierna fäster sig till receptorer på mikrovilli och bildar kolonier. Patogenerna överför toxiner som i sin tur ökar utsöndringen av natrium-, klor- och vätekarbonatjoner till lumen och reducerar absorptionen av vätskor och salt (Nagy & Zs. Fekete, 1999). Detta resulterar i bland annat diarré, uttorkning, reducerat foderintag samt reducerad tillväxt (Heo *et al.*, 2013). Heo *et al.* (2013) menar därför att en av de viktigaste åtgärderna mot avvänjningsdiarré är att reducera antalet ETEC men också att förhindra att bakterierna binder till epitelet.

Det finns även fler fysiologiska effekter vid avvänjning, till exempel ökat pH-värde i digestionskanalen på grund av bland annat förändrad diet (Cranwell, 1995 se Heo *et al.*, 2013). Högre pH-värde gynnar patogena bakterier och kan därmed leda till avvänjningsdiarré hos smågrisar

(Nagy & Zs. Fekete, 1999). Vid stress minskar också antalet mjölksyrabakterier i digestionskanalen medan antalet koliforma bakterier ökar (Fuller, 1989). Mjölksyrabakterierna bidrar bland annat till ökat antal celler som deltar i immunförsvaret (Cross, 2002) och framkallar antimikrobiella effekter som i sin tur leder till förbättrat utnyttjande av näringsämnen (Giang et al., 2010) vilket innebär att en minskning av dessa har negativ inverkan på djurets hälsa.

Vad är probiotika?

Ordet probiotika betyder ”för livet” (FAO & WHO, 2006) och kommer från latinets *pro* (för) och grekiskans *bio* (livet) (Ezema, 2013). Ordet probiotika myntades på 1960-talet men dess definition har justerats flertalet gånger (FAO & WHO, 2006). FAO & WHO (2006, s. 2) definierar probiotika som ”live microorganisms, which upon ingestion in certain numbers, exert health benefits beyond inherent basic nutrition” och enligt Guarner & Schaafsma (1998, s. 1) definieras probiotika som ”live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host”. Gemensamt för samtliga definitioner som uppkommit under årens lopp är att alla syftar till att beskriva probiotika som produkter innehållande levande organismer samt att mängden probiotika som intas måste vara tillräcklig för att den önskvärda effekten ska uppnås (FAO & WHO, 2006).

Det är viktigt att mikroorganismerna som används som probiotika har egenskaper anpassade för att överleva miljön i tarmen (Fuller, 1989; Bajagai *et al.*, 2016). Fuller (1989) beskriver att de ska hantera både kemiska och fysiska antibakteriella mekanismer samt peristaltiken för att inte riskera att följa med avföringen. Genom att binda till slemhinnan eller föröka sig snabbare än peristaltiken ökar chansen att etablera sig. Andra viktiga egenskaper mikroorganismerna bör ha är att de ska överleva hantering, tillverkning och lagring samt kunna etablera sig på billiga näringsämnen (Collins *et al.*, 1998) för att kunna framställa en kostnadseffektiv probiotika.

Det finns olika sätt att tillföra smågrisarna probiotika. Den kan exempelvis frystorkas eller fermenteras och tillsättas i fodret eller tillföras som en lösning via vattnet (Huang *et al.*, 2004; Mishra *et al.*, 2012; Dong *et al.*, 2014; Lan *et al.*, 2017; Xie *et al.*, 2018). Probiotika har visats påverka hälsan på olika sätt beroende på vilken typ av mikroorganism som tillsats (Heo *et al.*, 2013). Mekanismerna bakom dessa effekter är dock inte helt klarlagda (Celi *et al.*, 2017) men det finns studier som indikerar att probiotika i form av mikroorganismer från grupperna *Lactobacillus*, *Enterococcus* och *Saccharomyces* ökar andelen mjölksyrabakterier i tarmen (Huang *et al.*, 2004; Mallo *et al.*, 2010; Mishra *et al.*, 2012). Exempel på andra hälsoeffekter är ökad tillväxt, produktion av antimikrobiella substanser, inhiberande effekter på ETEC och minskat antal diarréer (Heo *et al.*, 2013). Det finns dock studier som inte påvisat någon positiv effekt på varken tillväxt eller antalet mjölksyrabakterier (Huang *et al.*, 2004; Dong *et al.*, 2014; Xie *et al.*, 2018).

Mått på hälsa

Hälsoeffekterna som probiotika kan medföra mäts på olika sätt i olika studier. Eftersom den här litteraturstudien huvudsakligen beskriver positiva hälsoeffekter med fokus på tillväxt, används mått på djurhälsa som kan kopplas till just detta. Genomsnittligt dagligt foderintag (Average daily feed intake; ADFI) visar hur smågrisarnas foderkonsumtion påverkas. För att mäta ADFI vägs mängden foder som utfodrats samt den mängd som inte konsumerats, varje dag eller under

ett visst antal dagar. Därefter beräknas det genomsnittliga foderintaget för gruppen under hela perioden. Genomsnittlig daglig viktökning (Average daily gain; ADG) är ett mått på hur tillväxten påverkats under experimentet. ADG beräknas genom att ett fåtal eller alla smågrisar i en grupp vägs varje dag eller under ett visst antal bestämda dagar under försökets gång. Därefter räknas genomsnittet ut för perioden då försöket pågick. ADG kan påverkas av ADFI då lägre foderintag kan medföra lägre tillväxt och tvärtom. Om ADFI sjunker och ADG ökar kan det innebära att smågrisarna erhållit en förbättrad fodereffektivitet.

Det finns olika mått som beskriver fodereffektivitet. Den här studien inkluderar foderomvandlingsförmåga (Feed conversion ratio; FCR), förhållandet mellan tillväxt och foder (Gain:feed ratio; G:F) samt förhållandet mellan foder och tillväxt (Feed:gain ratio; F:G). Samtliga kalkyleras baserat på mätningar av ADG och ADFI. FCR anger mängden foder som behövs för att ansätta en viss mängd kött. G:F anger hur stor tillväxten är i relation till foderintag och F:G anger hur mycket foder som behövs för att grisen ska växa ett visst antal kilo. Vid försökens slut sker vanligen en slutlig vägning av smågrisarna för att jämföra den slutliga kroppsvikten (Body weight; BW) med kontrollgruppen. Ökad ADG och BW hos smågrisar som fått probiotika jämfört med kontrollgruppen bekräftar hypotesen att tillväxten ökar vid utfodring av probiotika efter avvänjning.

Som tidigare nämnts har antalet mjölksyra- och koliforma bakterier i tarmkanalen en viktig roll i djurens hälsa och därför används dessa faktorer som mått på djurhälsa i den här litteraturstudien. Antalet bakterier mäts efter insamling av avföring från smågrisarna i försöket under ett varierande antal dagar beroende på studie. Bakterierna isoleras på agarplattor och därefter räknas antalet bakterier eller kolonier. Diarré kvantifierades i försöken som antal grisar som utvecklar diarré samt med hjälp av poängsättning där högre poäng innebar lösare avföring. Samtliga studier i den här litteraturgenomgången har använt en kontrollgrupp som utfodrats och hanterats på samma sätt som den grupp som fått probiotika för att jämföra resultaten på hälso-parametrarna som använts i försöken.

ADG och fodereffektivitet ger en generell bild av smågrisarnas hälsa då djur som drabbats av infektion lägger energi på att bekämpa denna vilket kan leda till reducerad tillväxt och reducerat näringsutnyttjande (Celi *et al.*, 2017). Djur som drabbats av patogener kan dessutom uppvisa reducerat foderintag (Heo *et al.*, 2013) och därmed sänkt ADFI. Diarré är ett tydligt tecken på infektion. Det ger dock ingen direkt information om infektionen är relaterad till virus eller bakterier, varför koliforma bakterier är ett bra mått att använda som komplement. Antalet mjölksyra- och koliforma bakterier ger en mer specifik bild av tarmhälsan och immunförsvaret hos smågrisarna. Ett ökat antal mjölksyrabakterier kan gynna smågrisarnas immunförsvaret i och med deras antimikrobiella funktioner. Ett gott immunförsvaret bidrar till friska djur och därmed även djur som växer bättre.

Måtten på djurhälsa som valts ut till den här studien ger en bild av hur smågrisarnas tarmhälsa ser ut och kan användas för att resonera kring näringsutnyttjande och tillväxt. De vanligaste mikroorganismerna att använda som probiotika inom animalieproduktionen är bakterier från släktena *Lactobacillus*, *Enterococcus* och *Bacillus* samt jäst från släktet *Saccharomyces* (Anadón *et al.*, 2006; Gaggia *et al.*, 2010) och det är just deras effekter på smågrisarnas hälsa med fokus på tillväxt som kommer att behandlas i den här studien (Tabell 1).

Tabell 1

Sammanställning av resultat från vetenskapliga studier som beskriver probiotikans effekt hos smågrisar på valda hälsoparametrar. Probiotika utfodrades efter avvänjning vilken inträffade under dag 21-28. (+) innebär fördelaktig hälsoeffekt för smågrisarna, (-) innebär det motsatta och (0) innebär att effekten uteblev. Tom ruta innebär att ingen information finns. (+) innebär att ADFI, ADG, BW och MSB ökat medan fodereffektivitet, antalet koliforma bakterier

Studie	Probiotika - art	Probiotika - stam	Mängd probiotika per enhet foder	ADFI	ADG	Fodereffektivitet	BW	Diarré	MSB	Koliforma
Kyriakis <i>et al.</i> (1999)	<i>B. licheniformis</i>		10 ⁶ levande sporer/g	+	+	+	0	+		
Kyriakis <i>et al.</i> (1999)	<i>B. licheniformis</i>		10 ⁷ levande sporer/g	+	+	+	+	+		
Jørgensen <i>et al.</i> (2016)	<i>B. licheniformis</i> , <i>B. subtilis</i>	DSM 5749, DSM 5750	400 mg/kg	0	+	+	+			
Dong <i>et al.</i> (2014) ¹	<i>B. subtilis</i>	B27	2*10 ⁸ cfu/kg	-	0	+			0	0
Kyriakis <i>et al.</i> (1999)	<i>B. toyoi</i> (Toyocerin)		10 ⁶ levande sporer/g	0	+	+	0	+		
Mallo <i>et al.</i> (2010)	<i>E. faecium</i>	CECT 4515	10 ⁶ cfu/g	0	+	+	+		+	+
Xie <i>et al.</i> (2018)	<i>E. faecium</i>		(2*10 ¹⁰ cfu/g) 100 mg/kg	0	0	+		+	0	0
Xie <i>et al.</i> (2018)	<i>E. faecium</i>		(2*10 ¹⁰ cfu/g) 300 mg/kg	0	0	+		+	0	0
Xie <i>et al.</i> (2018)	<i>E. faecium</i>		(2*10 ¹⁰ cfu/g) 500 mg/kg	0	0	+		+	0	0
Zeyner & Boldt (2006) ²	<i>E. faecium</i>	DSM 10663 NCIMB 10415	2,8*10 ⁹ cfu/g		+			+		
Lu <i>et al.</i> (2018)	<i>E. faecium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>L. paracasei</i>	DSM 7134, AS1.836, L9	(1*10 ⁸ cfu/g), (2*10 ¹⁰ cfu/g), (1*10 ¹⁰ cfu/g)	+	+	+	+	+		
Lu <i>et al.</i> (2018)	<i>E. faecium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. cerevisiae</i>	DSM 7134, AS1.836, ATCC 28388	(1*10 ⁸ cfu/g), (2*10 ¹⁰ cfu/g), (1*10 ¹⁰ cfu/g)	+	+	+	+	+		
Giang <i>et al.</i> (2010)	<i>E. faecium</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i>	6H2, C3, 1K8	(3*10 ⁸ cfu/g), (4*10 ⁶ cfu/g), (2*10 ⁶ cfu/g)	+	+	+	+			
Giang <i>et al.</i> (2010)	<i>E. faecium</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>P. pentosaceus</i>	6H2, C3, D7	(3*10 ⁸ cfu/g), (4*10 ⁶ cfu/g), (3*10 ⁶ cfu/g)	+	+	+	+			
Lan <i>et al.</i> (2017)	<i>L. acidophilus</i>		1g/kg	+	+	+			+	+
Lan <i>et al.</i> (2017)	<i>L. acidophilus</i>		2g/kg	+	+	+			+	+
Lan <i>et al.</i> (2017)	<i>L. acidophilus</i>		3g/kg	+	+	+			+	+
Mishra <i>et al.</i> (2016)	<i>L. acidophilus</i>	NCDC-15	2-3*10 ⁹ cfu/g		+	+	+		+	+
Giang <i>et al.</i> (2010)	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. plantarum</i>	C3, 1K8, 3K2	(4*10 ⁶ cfu/g), (2*10 ⁶ cfu/g), (7*10 ⁶ cfu/g)	+	+	+	+			
Huang <i>et al.</i> (2004)	<i>L. gasseri</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. fermentum</i>		2*10 ⁸ cfu/ml					+	+	+
Huang <i>et al.</i> (2004)	<i>L. gasseri</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. fermentum</i>		2*10 ⁸ cfu/g	+	0				+	+
Dong <i>et al.</i> (2014) ¹	<i>L. plantarum</i>	GF 103	8,6*10 ⁹ cfu/kg	-	0	+			0	+
Dong <i>et al.</i> (2014) ¹	<i>L. plantarum</i> , <i>B. subtilis</i>	GF 103, B27	(4,3*10 ⁹ cfu/kg), (1*10 ⁸ cfu/kg)	-	0	+			0	0
Zhao & Kim (2014)	<i>L. reuteri</i> , <i>L. plantarum</i>		1g/kg	0	+	0		+	+	+
Zhao & Kim (2014)	<i>L. reuteri</i> , <i>L. plantarum</i>		2g/kg	0	0	0		0	0	0
Mishra <i>et al.</i> (2016)	<i>S. cerevisiae</i>	NCDC-49	3-5*10 ⁶ cfu/g		+	+	+		+	+
Trckova <i>et al.</i> (2014) ²	<i>S. cerevisiae</i>	CNCM I-4407	5g/kg	0			+	+		+
Bontempo <i>et al.</i> (2006)	<i>S. cerevisiae</i> spp. <i>Boulardii</i>	Levucell SB-CNCM I-1079	2g/kg		+	0	+			
Le Bon <i>et al.</i> (2010)	<i>S. cerevisiae</i> ssp. <i>Boulardii</i> , <i>P. acidilactici</i>	CNCM I-1079, CNCM MA 18/5 M	(2*10 ⁹ cfu/kg), (1*10 ⁹ cfu/kg)			+				+

Cfu = colony forming units; ADFI = Average daily feed intake; ADG = Average daily gain; FCR = Feed conversion ratio; BW = Body weight; MSB = Mjölksyrabakterier

¹ = Avvanda på dag 35-37; ² = Probiotika utfodrad innan avvänjning

Probiotikans hälsoeffekter på avvanda smågrisar

Lactobacillus

Bakterier inom släktet *Lactobacillus* förekommer normalt i grisens mikrobiota och är några av de vanligaste bakterierna att använda som probiotika (Anadón *et al.*, 2006). I en studie av Mishra *et al.* (2012) som pågick i 140 dagar med 36 smågrisar medförde tillskott av *L. acidophilus* NCDC-15 som fermenterats tillsammans med fodret förbättrad ADG och FCR hos smågrisar som avvants vid 28 dagars ålder. Dock påverkades inte ADFI av probiotikan. Tillsatsen medförde minskat antal koliforma bakterier och ökat antal mjölksyrabakterier i ileum och kolon. Lan *et al.* (2017) studerade effekten av olika tillsatt mängd fermenterad *L. acidophilus* där 175 smågrisar fördelades på tre grupper. En grupp fick 1 g probiotika/kg foder, en annan 2 g/kg foder och den tredje 3 g/kg foder. Det observerades inga skillnader mellan grupperna som fått olika mängd probiotika men däremot hade samtliga grupper som fått probiotika ökad ADFI och ADG. Andra hälsoeffekter som observerades i studien var ökat antal mjölksyrabakterier samt minskat antal *E. coli* i den fekala mikrofloran.

Giang *et al.* (2010) kunde se en förbättring i ADFI, ADG och FCR hos smågrisarna som fått olika komplex av *Lactobacillus*, *Enterococcus* och *Pediococcus* som isolerats ur digesta från tillväxtgrisar. De förbättrade hälsoeffekterna kunde ses under de första två veckorna efter avvänjning vilken ägde rum vid 21–23 dagars ålder. Det fanns dock inga skillnader i foderintag eller viktökning under de efterföljande veckorna och det fanns heller inga skillnader mellan grupperna som fått olika bakteriekomplex. Detta tyder på att vilken sorts komplex inte hade någon betydelse, utan enbart det faktum att de fått probiotika medförde positiva hälsoeffekter. I samma studie påvisades även ökad andel mjölk- och ättiksyra i ileum och kolon på både dag 14 och dag 35. Det finns även exempel på studier där probiotika lett till nedsatt foderintag. Dong *et al.* (2014) utförde ett experiment som pågick i fem veckor där 144 smågrisar som avvants vid 35–37 dagars ålder fick tillskott av enbart frystorkad *L. plantarum* GF 103, eller i kombination med *B. subtilis* B27. Båda behandlingarna ledde till sänkt ADFI men även sänkt FCR vilket tyder på att tillskott av probiotika medfört ett lägre foderintag men samtidigt förbättrad foderomvandlingsförmåga. I samma studie var även förekomsten av *E. coli* i fekala mikrobiota lägre hos de smågrisar som enbart fått tillskott av *L. plantarum* GF 103, medan antalet mjölksyrabakterier inte påverkades av någon av behandlingarna.

Huang *et al.* (2004) utförde en studie där smågrisar som avvants vid 28 dagars ålder infekterades med *E. coli* K99, K88 och 987P åtta dagar efter avvänjning. Smågrisarna hade under de första sju dagarna efter avvänjning fått tillskott av probiotika i dricksvattnet i form av komplex innehållande *L. gasseri*, *L. reuteri*, *L. acidophilus* och *L. fermentum* som isolerats från digestionskanalen i friska avvanda grisar. Både incidensen och graden av diarré var mindre hos smågrisar som fått probiotika jämfört med kontrollgruppen. Tillskott av *Lactobacillus*-komplexet medförde även högre antal mjölksyrabakterier i tarmkanalen. Samma studie gjorde även ett experiment där smågrisar fick tillskott av probiotikan utan att infekteras med *E. coli*. Kontrollgruppen fick istället ett antibakteriellt läkemedel vid namn Carbadox. Smågrisarna som fått probiotika hade ökad ADFI under de två första veckorna efter avvänjning medan ADG enbart förbättrades under dag 8–14. Det observerades inga signifikanta hälsoeffekter under de efterföljande 15–21 dagarna. Även i det här experimentet minskade antalet *E. coli* medan mjölksyrabakterierna

ökade i tarmkanalen hos de som fått probiotika. Zhao & Kim (2015) studerade effekten av tillskott av ett probiotika-komplex innehållande *L. reuteri* och *L. plantarum* med en koncentration på 0,1% och 0,2%. De använde sig av två kontrollgrupper där en enbart fick foder och den andra fick tillskott av antibiotika. Det fanns ingen effekt på varken ADFI eller G:F under hela experimentet som pågick i 28 dagar. Däremot var ADG större hos smågrisarna som fått 0,1% av komplexet och hos kontrollgruppen som fått antibiotika över hela perioden. Det kunde även konstateras att smågrisar som fått 0,1% av komplexet drabbades av mindre allvarlig diarré och de hade minskad förekomst av *E. coli* samt ökad andel mjölksyrabakterier i avföringen.

Enterococcus

Enterococcus är ett släkte bakterier som finns naturligt i grisens mikrobiota (Anadón *et al.*, 2006). Som nämnts ovan under rubriken *Lactobacillus* studerade Giang *et al.* (2010) nyligen avvanda smågrisar som fått olika sammansättningar av komplex innehållande *Enterococcus*, *Lactobacillus* och *Pediococcus*. Tillskott av probiotika medförde flertalet positiva hälsoeffekter, vilka beskrivs ovan. Xie *et al.* (2018) kunde däremot inte påvisa någon signifikant effekt på ADG eller ADFI vid tillsats av *E. faecium* i fodret 14 dagar efter avvänjning. 235 smågrisar som avvants vid 21 dagars ålder deltog i försöket och det fanns två kontrollgrupper, en som enbart fick foder och en som i tillägg fick antibiotika. Smågrisar som fått probiotika och antibiotika hade förbättrad G:F och även lägre grad av diarré. Graden av diarré minskade hos smågrisarna som fått probiotika linjärt med ökning av andel probiotika. Även längden på villi i duodenum, jejunum och ileum ökade linjärt med ökad andel probiotika. Xie *et al.* (2018) såg även ett sänkt pH-värde i magen, duodenum, jejunum och blindtarmen hos smågrisar som fått probiotika, vilket som tidigare nämnt har antimikrobiella effekter.

Zeyner & Boldt (2006) studerade utfodring av *E. faecium* DSM 10663 NCIMB 10415 i tre olika behandlingar. Den ena behandlingen gavs direkt efter födseln samt dag två och tre i smågrisarnas liv. Den andra behandlingen gavs från och med fjärde dagen i livet ända till avvänjning vid dag 24 och den tredje gavs till smågrisar som utvecklade diarré. I kontrollgrupperna fick 40% diarré medan endast 14,8% av smågrisarna som fått probiotika utvecklade diarré. Diarréerna i kontrollgruppen var dessutom av allvarligare grad jämfört med diarréerna hos smågrisarna som fått probiotika. Tillsatsen av probiotika medförde även ökad daglig tillväxt med 17 g/dag jämfört med kontrollgruppen. Även Mallo *et al.* (2010) kunde påvisa ökad tillväxt hos smågrisar som fått probiotika. Tillskott av 10^6 colony forming units (cfu) *E. faecium* CECT 4515 per gram foder efter avvänjning medförde en ökad vikt med 7,7% vid 56 dagars ålder jämfört med de som enbart fått avvänjningsfoder. Samma studie resulterade även i sänkt FCR och minskad andel *E. coli* i ileum samt ökat antal mjölksyrabakterier hos smågrisar som fått probiotika.

Bacillus

Jørgensen *et al.* (2016) studerade smågrisar från avvänjning vid 28 dagars ålder till slakt vid 182 dagars ålder. Smågrisarna fick tillskott av probiotika i form av en blandning av *B. licheniformis* DSM 5749 och *B. subtilis* DSM 570 i fodret. De fick även foder med två olika energini-våer, en normal och en lägre, för att undersöka om probiotikan i kombination med de olika energiniåvåerna gav samma effekt. Probiotikan gav ingen effekt på tillväxten hos smågrisarna under dagarna efter avvänjning (28–42) hos någon av grupperna, men däremot kunde en ökad tillväxt med 6,1% konstateras under dagarna 28–70 hos de som fått probiotika. Dessutom hade

smågrisarna som fått dieten med normal energinivå förbättrad F:G jämfört med både kontrollgruppen och gruppen som fått foder med lägre energinivå.

Kyriakis *et al.* (1999) använde smågrisar från en konventionell uppfödning i norra Grekland där avvänjningsdiarré orsakad av ETEC var vanligt förekommande. Olika grupper med smågrisar, avvanda vid 25 dagars ålder, fick olika mängd tillsatt *B. licheniformis* i fodret tre veckor efter att diarrén brutit ut. Det konstaterades att samtliga som fått probiotika hade signifikant lägre dödlighet, mindre allvarliga diarréer och högre ADFI jämfört med kontrollgruppen. De som fått 10^7 g sporer/kg foder hade också signifikant lägre dödlighet, mindre allvarliga diarréer, högre ADG och lägre FCR samt högre BW i slutet av försöket jämfört med de som fått 10^6 g sporer/kg foder. Ingen i gruppen som fick 10^7 g sporer/kg foder visade heller några allvarliga eller typiska tecken på infektion orsakad av *E. coli* vilket tyder på att rätt mängd tillsatt probiotika är viktigt för att uppnå önskad effekt.

Dong *et al.* (2014) kunde inte uppvisa någon effekt på ADG hos smågrisar vid tillsats av enbart *B. subtilis* B27 eller i kombination med *L. plantarum* GF103. Däremot sjönk ADFI och FCR vid tillsats av både den kombinerade probiotikan samt den som innehöll enbart *B. subtilis*. Resultatet beskrivs ovan under rubriken *Lactobacillus*. Även Lu *et al.*, (2018) gjorde en studie med *B. subtilis*, dock av varianten AS1.836 i två olika komplex tillsammans med *E. faecium* DSM 7134 och *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 28338 respektive *E. faecium* DSM 7134 och *L. paracasei* L9. Tillskott av respektive probiotikakomplex i fodret till smågrisar som avvants vid 28 dagars ålder resulterade i ökad BW och ADG samt minskad ADFI och FCR. Båda komplexen medförde också lägre grad av allvarliga diarréer. Gruppen som fick *Lactobacillus* i komplexet hade även lägre pH-värde i avföringen jämfört med både kontrollgruppen och gruppen som fått probiotikakomplex med *Saccharomyces*. Det låga pH-värdet har, som tidigare nämnts, undertryckande effekt på patogener.

Saccharomyces

I en studie av Mishra *et al.* (2012) påvisades att tillsats av jästsvampen *S. cerevisiae* NCDC-49 som fermenterats tillsammans med fodret ökade ADG och FCR samt minskade antalet koliforma bakterier hos smågrisar som avvants vid 28 dagars ålder. Även Bontempo *et al.* (2006) visade ökad ADG hos smågrisar till och med 30 dagar efter avvänjning när de fått tillsats av levande jästsvampen *S. cerevisiae* spp. *Boulardii*. Tillsats av probiotikan medförde även ökad längd på villi och djupare Lieberkühnska kryptor. Le Bon *et al.* (2010) kunde påvisa förbättrad FCR hos smågrisar som avvants vid fyra veckors ålder och fått tillskott av *S. cerevisiae* spp. *Boulardii* jämfört med kontrollgruppen. Smågrisar som fått probiotikan hade även signifikant minskning av *E. coli* och antal koliforma bakterier fyra veckor efter avvänjning. Däremot hade svampen ingen effekt på varken villi eller Lieberkühnska kryptor nio veckor efter avvänjning.

Treckova *et al.* (2014) studerade om *S. cerevisiae* CNCM I-4407 hade någon effekt på avvänjningsdiarré hos smågrisar. Fyra suggor från en konventionell gård i Tjeckien förflyttades till en försöksanläggning och fick där tillskott av jästen från dag 94 i dräktigheten. Smågrisarna fick jästen tre gånger i veckan från och med grisning till och med avvänjningen som ägde rum på dag 28. När smågrisarna var 29 dagar gamla infekterades de med ETEC O149:K88 vilket orsakade diarréer hos både kontrollgrupperna och hos grisarna som fått probiotika. De som fått probiotika drabbades dock av mindre allvarlig diarré och hade även signifikant lägre andel

ETEC i avföringen jämfört med kontrollgruppen. Samtliga grupper hade återigen normal avföring på dag elva. På dag 42 hade de som fått probiotika en signifikant ökad BW jämfört med kontrollgruppen, vilket förmodligen berodde på den lägre graden av diarré.

Diskussion

Flera studier bekräftar hypotesen att tillväxten hos smågrisar ökar med tillskott av probiotika efter avvänjning. Detta gäller speciellt probiotika innehållande bakterier inom släktena *Lactobacillus* och *Enterococcus*. Probiotika innehållande mikroorganismer inom släktena *Bacillus* och *Saccharomyces* verkar också öka tillväxten men försöken som studerats i den här uppsatsen är för få eller innehåller brister vilket medför att hypotesen inte kan bekräftas.

I tre av de fyra försöken i den här litteraturstudien där *Saccharomyces* studerats kunde en ökad tillväxt noteras. I experimenten av Bontempo *et al.* (2006) och Lan *et al.* (2016) användes dock zink och koppar i fodret vilket medför ett mindre tillförlitligt resultat. Det är inte säkert att den ökade tillväxten var en effekt av probiotikan utan kan ha påverkats av zink eller koppar. Trckova *et al.* (2014) undersökte huvudsakligen möjligheten att minska avvänjningsdiarré med tillskott av *S. cerevisiae*. Det konstaterades att diarréerna var av mildare grad hos smågrisarna som växte upp med tillskott av probiotika, vilket förmodligen gav upphov till ökad tillväxt (Trckova *et al.*, 2014). Detta tyder på att tillskott av *S. cerevisiae* inte direkt medför ökad tillväxt utan har god effekt på avvänjningsdiarré och därmed påverkas även tillväxten positivt. Le Bon *et al.* (2010) visade i sin pilotstudie förbättrad FCR och färre antal *E. coli* fyra veckor efter avvänjning hos smågrisar som fått tillskott av *S. cerevisiae* ssp. *Boulardii* och *P. acidilactici*. Det kunde dock inte observeras någon effekt på villi eller djupet på Lieberkühnska kryptorna. De histologiska effekterna fastställdes dock nio veckor efter avvänjning vilket kan ha betydelse för resultatet då probiotika möjligen har störst effekt direkt efter avvänjning när smågrisarna är som mest utsatta för stress. Pilotstudien inkluderade endast åtta smågrisar, varav fyra fick probiotika, vilket gör att resultatet inte är tillförlitligt men indikerar att det är relevant med fortsatta studier.

Kyriakis *et al.* (1999) påvisade att mängden tillsatt *B. licheniformis* hade betydelse för hälsoeffekterna. Smågrisar som fått tillskott av en större mängd hade signifikant förbättrad FCR än både de som fått den lägre mängden och även jämfört med de som fått tillskott av *B. toyoi*. I samma studie konstaterades även att BW var högst hos de som fått den större mängden probiotika medan de som fått mindre mängd vägde lika mycket som kontrollgruppen vid experimentets slut. Detta tyder på att mängden tillsatt *Bacillus* har betydelse för vilken gynnsam effekt på hälsan den har. Jørgensen *et al.* (2016) visade att smågrisar som fått tillskott av *B. licheniformis* och *B. subtilis* hade ökad tillväxt, dock inte direkt efter avvänjningen utan två veckor senare. Detta kan möjligen bero på att den energi som smågrisarna kunde utvinna ur fodret under de två första veckorna användes till att bekämpa patogener istället för tillväxt. Jørgensen *et al.* (2016) påvisade även att smågrisar som fått foder med normal energinivå hade förbättrad BW, ADG och F:G jämfört med gruppen som fått foder med lägre energinivå och probiotika. Utfallet i studien beror nödvändigtvis inte på probiotikan då energinivån i fodret påverkar tillväxten oavsett om probiotika är tillsatt. Det hade varit mer intressant med en studie där ena sortens foder innehöll en högre energinivå än normalt för att undersöka om probiotikans effekt på tillväxten kunde öka ytterligare.

Lan *et al.* (2017) kunde inte se några skillnader i hälsoeffekter när *L. acidophilus* användes i olika mängd. Den största mängd som tillsattes var 3 g/kg foder vilket innebär att det är oklart om ytterligare mängd gett ytterligare hälsoeffekter. I fodret som användes fanns tillskott av zink och koppar vilket kan ha medfört goda hälsoeffekter. Det är därför inte möjligt att dra slutsatsen att den ökade ADG och ADFI berodde på probiotikan. Huang *et al.* (2004) menade att smågrisar som fått komplex av *Lactobacillus* hade ökad ADFI under de första två veckorna efter avvänjning jämfört med kontrollgruppen som fått Carbadox. Däremot var ADG enbart signifikant högre under dag 8–14. Det hade varit önskvärt med en jämförelse med en kontrollgrupp som inte fått något tillskott av läkemedel eftersom studien ämnade att undersöka om *Lactobacillus*-komplex kunde fungera som probiotika. En jämförelse med djur som fått antibakteriellt läkemedel ger inte ett resultat som förklarar de verkliga effekterna probiotikan har. Zhao & Kim (2015) påvisade ökad ADG under hela experimentets gång (28 dagar) hos smågrisar som fått 0,1% av *Lactobacillus*-komplexet samt kontrollgruppen som fått antibiotika, men det fanns inga signifikanta skillnader mellan dem. Det fanns inga skillnader vad gäller ADFI och G:F mellan någon av grupperna. Varför de som fått en högre koncentration probiotika (0,2%) inte uppvisade några signifikanta effekter på tillväxten jämfört med övriga grupper är oklart och behöver studeras vidare. De uteblivna effekterna kan ha berott på eventuella inhiberande effekter orsakade av probiotika i för stor mängd.

Dong *et al.* (2014) kunde inte påvisa någon effekt på tillväxten vid tillskott av enbart *B. subtilis* B27 eller i kombination med *L. plantarum* GF103. Dessa smågrisar avvandes när de var 35–37 dagar gamla vilket kan ha påverkat utfallet i studien då de fått dia under en längre period än vad som är normalt i konventionell grisproduktion. Under de två första veckorna i experimentet var ADFI och FCR lägre hos grisarna som fått probiotika jämfört med kontrollgruppen. Anledningen till att tillväxten inte påverkades trots att smågrisarna hade lägre foderintag kan bero på den förbättrade fodereffektiviteten. Studien resulterade inte i någon effekt på antalet mjölksyrabakterier i den fekala mikrobiotian vilket också kan ha berott på den senare avvänjningen. Eftersom de diat en längre tid hade de antagligen även intagit en större mängd mjölksyrabakterier från mjölken vilket kan ha varit en orsak till att antalet mjölksyrabakterier inte påverkades.

Xie *et al.* (2018) var den enda studien som inte kunde påvisa någon effekt på tillväxten hos smågrisar som fått probiotika innehållande *Enterococcus*. Probiotikabehandlingen påbörjades på dag 35, två veckor efter avvänjning, vilket troligen är anledningen till att ADG inte ökade. Under de två veckorna efter avvänjning hade smågrisarna redan hunnit utsättas för olika bakterier och då förmodligen redan bildat en balanserad mikrobiota som inte gynnades av probiotikan. I experimentet av Zeyner & Boldt (2006) minskade diarréerna markant hos smågrisar som fått *E. faecium* DSM 10663 NCIMB10415. Dock hade probiotikan ingen effekt på smågrisar som redan utvecklat diarré. Detta indikerar att om *Enterococcus* som probiotika ska ha någon effekt på avvänjningsdiarré måste den tillföras innan smågrisarna drabbas av diarré.

Det finns flera faktorer som påverkar resultaten i studierna som ingår i den här uppsatsen. I en del studier har smågrisarna hållits individuellt eller i par vilket kan ha varit ytterligare en stressfaktor som kan ha påverkat resultaten. Olika typer av foderingredienser har använts i de olika försöken, bland annat vassle och mjölkpulver. Dessa ingredienser kan också ha inverkan på resultaten då mjölkprodukter medför ökad andel mjölksyrabakterier i tarmkanalen. Vilka foderingredienser som används är därför viktigt att ha i åtanke vid vidare forskning. Majoriteten

av studierna som tas upp i den här uppsatsen är utförda i Asien där produktionsförhållandena och hygien är sämre jämfört med Sverige. Detta kan ha varit en fördel för hälsoeffekterna som redovisats och möjligen hade inte samma effekter uppnåtts under svenska förhållanden där hygien är bättre.

Den här uppsatsen behandlar endast ett fåtal mikroorganismer som kan användas som probiotika och de flesta har utfodrats i samband med avvänjning. Det finns en mängd fler varianter att studera och även tidpunkten för utfodringen. Probiotika kan möjligtvis ge andra hälsoeffekter vid utfodring direkt vid födsel eller under en längre period. Studier som berör de fysiologiska mekanismerna bakom probiotika kan bidra till större förståelse för hur probiotikan ska användas. Till exempel vilken typ av probiotika och vilken mängd som fungerar under vilka förhållanden samt vilka mikroorganismer som kan kombineras i olika komplex.

Något den här studien inte behandlar är säkerhetsaspekterna kring probiotika. I dagsläget definieras probiotika som fodertillsats inom EU och regleras därefter (EG nr 1831/2003). Innan probiotika godkänns som fodertillsats måste flertalet studier genomföras för att säkerställa mikroorganismernas förmåga att bland annat framkalla resistenta bakterier och påverka patogener i tarmkanalen hos den djurarten probiotikan är avsedd för (EG nr 429/2008). Detta är viktiga säkerhetsaspekter som i fortsättningen bör nyttjas då det finns stammar i släktet *Enterococcus* som kan överföra antibiotikaresistenta gener medan en del stammar inom släktet *Bacillus* kan producera toxiner (Anadón *et al.*, 2006).

Slutsats

Probiotika i form av mikroorganismerna som behandlats i den här studien verkar kunna öka tillväxten hos smågrisar om den tillsätts vid rätt tidpunkt och i rätt mängd. De olika formerna av probiotika som den här studien behandlar innebär flertalet goda hälsoeffekter, till exempel minskat antal och grad av diarréer, ökad andel mjölksyrabakterier i tarmen och förbättrad fodereffektivitet. Fler studier behövs för att säkerställa vilken typ av probiotika i vilken mängd och vid vilken tidpunkt den ska utfodras under olika förhållanden.

Som flera av studierna indikerar har probiotika gynnsamma effekter på diarré orsakad av enterotoxiska *E. coli* samt tillväxten och kan därför rekommenderas som tillskott för att hantera och förebygga avvänjningsdiarré. Detta under förutsättning att säkerhetsaspekterna hanteras korrekt och enligt rådande lagstiftning samt att det medför ekonomisk lönsamt för producenten.

Referenser

- Anadón, A., Rosa Martínez-Larrañaga, M. & Aranzazu Martínez, M. (2006). Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 45 (1), ss. 91–95. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2006.02.004>.
- Bajagai, Y.S., Klieve, A.V., Dart, P.J. & Bryden, W.L. (2016). Probiotics in animal nutrition: production, impact and regulation. Rome: FAO. (Animal Production and Health: 179) Available: <http://www.fao.org/3/a-i5933e.pdf>. [Accessed 2019-05-24].
- Bontempo, V., Di Giancamillo, A., Savoini, G., Dell'Orto, V. & Domeneghini, C. (2006). Live yeast dietary supplementation acts upon intestinal morpho-functional aspects and growth in weanling piglets. *Animal Feed Science and Technology*, vol. 129 (3–4), ss. 224–236. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.12.015>.
- Boudry, G., Péron, V., Le Huërou-Luron, I., Lallès, J.P. & Sève, B. (2004). Weaning Induces Both Transient and Long-Lasting Modifications of Absorptive, Secretory, and Barrier Properties of Piglet Intestine. *The Journal of Nutrition*, vol. 134 (9), ss. 2256–2262. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/134.9.2256>.
- Branschinfo kött. (2019). *Internationellt toppmöte om medicinsk zink*. Available from: <https://branschinfo-kott.se/aktuellt/nyheter/2019/februari/internationellt-toppmote-om-medicinsk-zink>. [Accessed 2019-04-16].
- Celi, P., Cowieson, A.J., Fru-Nji, F., Steinert, R.E., Klünter, A.-M. & Verlhac, V. (2017). Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: New opportunities for sustainable animal production. *Animal Feed Science and Technology*, vol. 234, ss. 88–100. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.09.012>.
- Collins, J.K., Thornton, G. & Sullivan, G.O. (1998). Selection of Probiotic Strains for Human Applications. *International Dairy Journal*, vol. 8 (5), ss. 487–490. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(98\)00073-9](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00073-9).
- Cross, M.L. (2002). Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, vol. 34 (4), ss. 245–253. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2002.tb00632.x>.
- Dong, X., Zhang, N., Zhou, M., Tu, Y., Deng, K. & Diao, Q. (2014). Effects of dietary probiotics on growth performance, faecal microbiota and serum profiles in weaned piglets. *Animal Production Science*, vol. 54 (5), s. 616. DOI: <https://doi.org/10.1071/AN12372>.
- EG nr 429/2008. Kommissionens förordning (EG) nr 429/2008 av den 25 april 2008 om tillämpningsföreskrifter för Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1831/2003 avseende utformning och presentation av ansökningar samt bedömning och godkännande av fodertillsatser. Available: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SV/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R0429&from=EN>. [Accessed 2019-05-24].
- EG nr 1831/2003. Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1831/2003 av den 22 september 2003 om fodertillsatser. Available: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SV/TXT/PDF/?uri=CELEX:32003R1831&from=EN>. [Accessed 2019-05-24].
- Ezema, C. (2013). Probiotics in animal production: A review. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, vol. 11 (5), ss. 308–316.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations & World Health Organization. (2006). Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Rome: FAO & WHO. (Food and Nutrition paper, 85). Available: <http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>. [Accessed 2019-04-16].
- Frese, S.A., Parker, K., Calvert, C.C. & Mills, D.A. (2015). Diet shapes the gut microbiome of pigs during nursing and weaning. *Microbiome*, vol. 3 (1), s. 28. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0091-8>.

- Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *The Journal of Applied Bacteriology*, vol. 66 (5), ss. 365–378.
- Gaggia, F., Mattarelli, P. & Biavati, B. (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 141, ss. S15–S28. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031>.
- Giang, H.H., Viet, T.Q., Ogle, B. & Lindberg, J.E. (2010). Effects of different probiotic complexes of lactic acid bacteria on growth performance and gut environment of weaned piglets. *Livestock Science*, vol. 133 (1–3), ss. 182–184. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.059>.
- Guarner, F. & Schaafsma, G.J. (1998). Probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 39 (3), ss. 237–238. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(97\)00136-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(97)00136-0).
- Hampson, D.J. (1986). Alterations in piglet small intestinal structure at weaning. *Research in Veterinary Science*, vol. 40 (1), ss. 32–40. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)30482-X](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)30482-X).
- Heo, J.M., Opapeju, F.O., Pluske, J.R., Kim, J.C., Hampson, D.J. & Nyachoti, C.M. (2013a). Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, vol. 97 (2), ss. 207–237. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01284.x>.
- Huang, C., Qiao, S., Li, D., Piao, X. & Ren, J. (2004). Effects of Lactobacilli on the Performance, Diarrhea Incidence, VFA Concentration and Gastrointestinal Microbial Flora of Weaning Pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, vol. 17 (3), ss. 401–409. DOI: <https://doi.org/2004.17.3.401>.
- Isaacson, R. & Kim, H.B. (2012). The intestinal microbiome of the pig. *Animal Health Research Reviews*, vol. 13 (1), ss. 100–109. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1466252312000084>.
- Jensen, P. (2009). *The Ethology of Domestic Animals*. 2. uppl. Oxfordshire: CAB International.
- Jordbruksverket. (2018). *Viktigt att motverka antibiotikaresistens hos djur*. Available from: <http://www.jordbruksverket.se/amnesomraden/djur/sjukdomarochsmittskydd/antibiotikaresistens/motverkaantibiotikaresistens.4.60778d4f133a753969d8000552.html>. [Accessed 2019-04-16].
- Jørgensen, J.N., Laguna, J.S., Millán, C., Casabuena, O. & Gracia, M.I. (2016). Effects of a Bacillus-based probiotic and dietary energy content on the performance and nutrient digestibility of wean to finish pigs. *Animal Feed Science and Technology*, vol. 221, ss. 54–61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.08.008>.
- Kyriakis, S.C., Tsiloyiannis, V.K., Vlemmas, J., Sarris, K., Tsinas, A.C., Alexopoulos, C. & Jansegers, L. (1999). The effect of probiotic LSP 122 on the control of post-weaning diarrhoea syndrome of piglets. *Research in Veterinary Science*, vol. 67 (3), ss. 223–228. DOI: <https://doi.org/10.1053/rvsc.1999.0308>.
- Lallès, J.-P., Bosi, P., Smidt, H. & Stokes, C.R. (2007). Weaning — A challenge to gut physiologists. *Livestock Science*, vol. 108 (1–3), ss. 82–93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.091>.
- Lallès, J.-P., Boudry, G., Favier, C., Le Floch, N., Luron, I., Montagne, L., Oswald, I.P., Pié, S., Piel, C. & Sève, B. (2004). Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. *Animal Research*, vol. 53 (4), ss. 301–316. DOI: <https://doi.org/10.1051/animres:2004018>.
- Lan, R., Koo, J. & Kim, I. (2017). Effects of Lactobacillus acidophilus supplementation on growth performance, nutrient digestibility, fecal microbial and noxious gas emission in weaning pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 97 (4), ss. 1310–1315. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.7866>.
- Le Bon, M., Davies, H.E., Glynn, C., Thompson, C., Madden, M., Wiseman, J., Dodd, C.E.R., Hurdidge, L., Payne, G., Le Treut, Y., Craigon, J., Töttemeyer, S. & Mellits, K.H. (2010). Influence of probiotics on gut health in the weaned pig. *Livestock Science*, vol. 133 (1–3), ss. 179–181. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.058>.

- Lu, X., Zhang, M., Zhao, L., Ge, K., Wang, Z., Jun, L. & Ren, F. (2018). Growth Performance and Post-Weaning Diarrhea in Piglets Fed a Diet Supplemented with Probiotic Complexes. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 28 (11), ss. 1791–1799. DOI: <https://doi.org/10.4014/jmb.1807.07026>.
- Mallo, J.J., Rioperez, J. & Honrubia, P. (2010). The addition of *Enterococcus faecium* to diet improves piglet's intestinal microbiota and performance. *Livestock Science*, vol. 133 (1), ss. 176–178. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.057>.
- Mishra, D.K., Verma, A.K., Agarwal, N. & Singh, P. (2012). Effect of Dietary Supplementation of Probiotics on Growth Performance, Nutrients Digestibility and Faecal Microbiology in Weaned Piglets. *Animal Nutrition and Feed Technology*, vol. 2014 (12), ss. 283–290. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40003-016-0231-9>.
- Nagy, B. & Zs. Fekete, P. (1999). Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animals. *Veterinary Research*, vol. 30 (2–3), ss. 259–284. Available from: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00902569>. [Accessed 2019-04-30].
- Pluske, J.R., Hampson, D.J. & Williams, I.H. (1997). Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livestock Production Science*, vol. 51 (1–3), ss. 215–236. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(97\)00057-2](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(97)00057-2).
- Pluske, J.R., Le Dividich, J. & Verstegen, M.W.A. (red) (2003). *Weaning the pig: Concepts and consequences*. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers. DOI: <https://doi.org/10.3920/978-90-8686-513-0>.
- Pluske, J.R., Turpin, D.L. & Kim, J.-C. (2018). Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. *Animal Nutrition*, vol. 4 (2), ss. 187–196. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.12.004>.
- Pluske, J.R., Williams, I.H. & Aherne, F.X. (1996). Maintenance of villous height and crypt depth in piglets by providing continuous nutrition after weaning. *Animal Science*, vol. 62 (01), ss. 131–144. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1357729800014417>.
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O. & Hove, K. (2016). *Physiology of Domestic Animals*. 3. uppl. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Song, Z.H., Xiao, K., Ke, Y.L., Jiao, L.F. & Hu, C.H. (2015). Zinc oxide influences mitogen-activated protein kinase and TGF- β 1 signaling pathways, and enhances intestinal barrier integrity in weaned pigs. *Innate Immunity*, vol. 21 (4), ss. 341–348. DOI: <https://doi.org/10.1177/1753425914536450>.
- Trckova, M., Faldyna, M., Alexa, P., Zajacova, Z.S., Gopfert, E., Kumprechtova, D., Auclair, E. & D'Inca, R. (2014). The effects of live yeast *Saccharomyces cerevisiae* on postweaning diarrhea, immune response, and growth performance in weaned piglets. *Journal of Animal Science*, vol. 92 (2), ss. 767–774. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6793>.
- Xie, Y.H., Zhang, C.Y., Wang, L.X., Shang, Q.H., Zhang, G.G. & Yang, W.R. (2018). Effects of dietary supplementation of *Enterococcus faecium* on growth performance, intestinal morphology, and selected microbial populations of piglets. *Livestock Science*, vol. 210, ss. 111–117. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.02.010>.
- Zeyner, A. & Boldt, E. (2006). Effects of a probiotic *Enterococcus faecium* strain supplemented from birth to weaning on diarrhoea patterns and performance of piglets*. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, vol. 90 (1–2), ss. 25–31. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2005.00615.x>.
- Zhao, P.Y. & Kim, I.H. (2015). Effect of direct-fed microbial on growth performance, nutrient digestibility, fecal noxious gas emission, fecal microbial flora and diarrhea score in weanling pigs. *Animal Feed Science and Technology*, vol. 200, ss. 86–92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.12.010>.